

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problems Mailbox.**

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 08-304339

(43)Date of publication of application : 22.11.1996

(51)Int.CI. G01N 27/447

(21)Application number : 07-129655 (71)Applicant : SHIMADZU CORP

(22)Date of filing : 27.04.1995 (72)Inventor : ARAI AKIHIRO

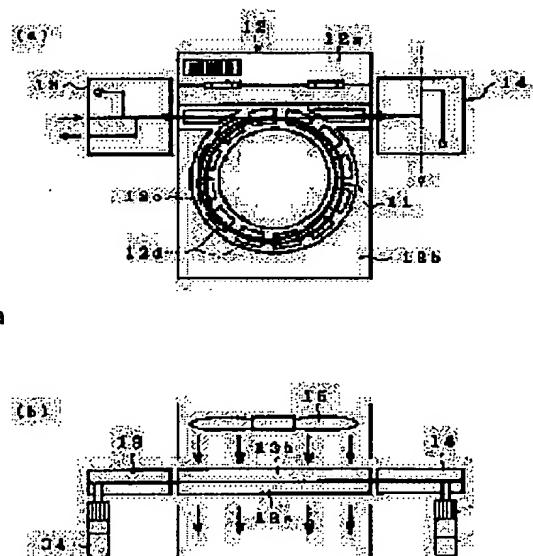
(54) CAPILLARY ELECTROPHORETIC DEVICE

(57)Abstract:

PURPOSE: To facilitate the injection of a precise quantity of a sample, and perform a component detection with high concentration sensitivity.

CONSTITUTION: A sample injecting tip 13 and a detecting tip 14 to be connected to both ends of a capillary 11 housed in a cartridge 12 are formed.

These are formed by laminating two glass plates, and an electrophoretic groove is formed on the laminated surfaces by micro-machining. In the sample injecting chip 13, a sample drawing groove is formed, and only a sample in the common part between this and the electrophoretic groove is sent to the capillary 11.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平8-304339

(43)公開日 平成8年(1996)11月22日

(51) Int.Cl.⁶
G 0 1 N 27/447

識別記号

庁内整理番号

F I

G 0 1 N 27/26

技術表示箇所

3 3 1 Z

審査請求 未請求 請求項の数1 FD (全 6 頁)

(21)出願番号 特願平7-129655

(22)出願日 平成7年(1995)4月27日

(71)出願人 000001993

株式会社島津製作所

京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地

(72)発明者 荒井 昭博

京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会

社島津製作所三条工場内

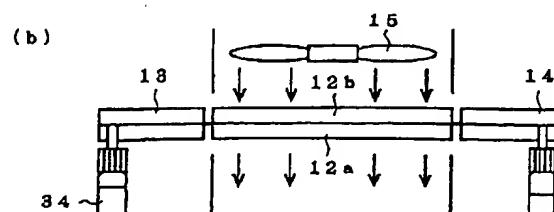
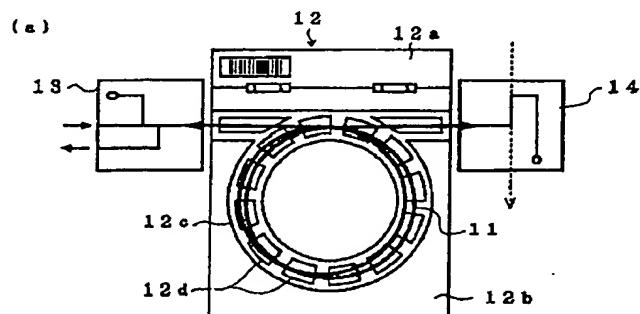
(74)代理人 弁理士 小林 良平

(54)【発明の名称】 キャピラリ重気泳動装置

(57)【要約】

【目的】 正確な量の試料注入を容易に行なうことができ、また、高い濃度感度で成分検出を行なえるようにする。

【構成】 カートリッジ12に収納されたキャピラリ11の両端に接続する試料注入チップ13及び検出チップ14を作成しておく。これらは2枚のガラス板が張り合わされており、張り合わせ面にマイクロマシーニングにより泳動溝が形成されている。試料注入チップ13においては試料延伸溝が形成され、これと泳動溝との共通部分の試料のみがキャピラリ11に送られる。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 a) キャピラリと、
 b) 2枚の平板が張り合わされて成り、両平板の間に、
 b1) 試料延伸溝と、
 b2) 試料延伸溝と一部を共有する溝であって、一端にキャピラリの一端と接続するための接続口が設けられた泳動溝と、が形成された試料注入チップと、
 c) 2枚の透明平板が張り合わされて成り、両透明平板の間に、検出部と、一端にキャピラリの他端と接続するための接続口とが設けられた泳動溝が形成された検出チップと、
 を備えることを特徴とするキャピラリ電気泳動装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、キャピラリ電気泳動装置に関する。

【0002】

【従来の技術】 微量の生体成分を正確且つ迅速に分析する方法は、分子構造解析などの研究をはじめとして、臨床分野、医薬品分野など、バイオテクノロジーに関わる広範な方面で常に要求されていることである。高速液体クロマトグラフ (HPLC) は現在最も一般的に用いられている分離分析法であるが、ペプチド、タンパク、DNA等の複雑な生体高分子の分離は困難な場合が多く、しかも分析に必要なサンプル量が多い。それに対し、内径 $100\mu\text{m}$ 以下の溶融シリカ管を用いるキャピラリ電気泳動 (CE) は、HPLC よりも分離度が高く、分析時間が短くて済むことが多い。低分子量イオンから生体高分子まで、特に構造が類似している成分間の分離に適しており、幅広く検討されるに至っている。CEは一般に内径 $25\sim100\mu\text{m}$ のフューズドシリカキャピラリを使用することから、 $\sim 500\text{V/cm}$ で泳動しても比較的楽に熱の放散が行なえるため、短時間で 100 万段ものカラム効率を得ることができる。しかも、従来の電気泳動と異なり、キャピラリの一部でオンライン検出をすることでき、HPLC と比較して試料の消費量が極めて少ない (数ナノリットル) という原理的な利点も持っている。

【0003】 また CE は、キャピラリカラムはそのままにして泳動に使用する緩衝液を交換するだけで分離選択性を容易に変えることができるため、従来の分離分析法と比較すると分離条件の検討が非常に容易である。HPLC でカラムを交換して分離モードを変えようとすれば、移動相の交換に加えて、ポンプ、配管、ミキサーその他の流路の徹底的な置換、洗浄が必要であるため、通常では 1 日の分析で分離モードを変更することは行なわない。

【0004】 しかしながら、上記利点を持つキャピラリの特性は逆に制約ともなり、試料の量が極めて少ないことから濃度感度は HPLC の 10 倍から 100 倍程度低

く、 $\sim 50\mu\text{m}$ のキャピラリでは一般に 10^{-6}M 程度が検出限界である。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】 従来のキャピラリ電気泳動では、試料注入側において以下のようないわゆる問題がある。従来、キャピラリへの所定量の試料の注入は、キャピラリの端部からその量に相当する長さだけ試料を注入することにより行なっていた。その際の試料注入法としては、キャピラリの両端に差圧を掛けることにより注入する方法と、電気泳動的に注入する方法とに大別される。しかし、差圧による方法の場合、数ナノリットルという微量試料を精度良く注入するためには、極めて微弱な圧力差をキャピラリ両端に掛け、十分な時間をかけて注入する必要がある。また、電気泳動的に注入する方法の場合、成分により移動速度に差が生じるため、ゲル充填キャピラリを用いる場合の注入など、用途が限られてしまう。

【0006】 更に、キャピラリ 60 端部が斜めに切断された場合 (図 6 (a)) 或いはキャピラリ 60 表面のポリイミド保護膜 61 が剥離した場合 (図 6 (b)) には、キャピラリ 60 端部への試料 62 の付着が不規則となり、いずれの方法においても試料注入長さにばらつきが生じる場合がある。また、実際に注入した試料の量は間接的にしか知ることができないという問題もある。

【0007】 一方、検出側においても以下のようないわゆる問題がある。泳動電圧を印加するため、キャピラリの両端は電極を挿入した泳動液槽に浸漬しておかねばならない。そのため、電気泳動で分離された成分の検出は、試料がキャピラリ内にある状態で行なわねばならない。検出を光学的に行なおうとすると、光はキャピラリを横断する方向に照射せざるを得ないが、この場合、光が試料を通過するのはキャピラリの内径相当の非常に短い距離でしかも、濃度感度の点で不利であった。

【0008】 本発明はこれらの課題を解決するために成されたものであり、その目的とするところは、正確な量の試料注入を容易に行なうことができ、また、高い濃度感度で成分検出を行なうことができるようしたキャピラリ電気泳動装置を提供することにある。

【0009】

【課題を解決するための手段】 上記課題を解決するためには成された本発明に係るキャピラリ電気泳動装置は、a) キャピラリと、b) 試料注入チップと、c) 検出チップと、を備えることを特徴としている。ここで、試料注入チップ b) は 2 枚の平板が張り合わされて成り、両平板の間に、b1) 試料延伸溝と、b2) 泳動溝 (第 1 泳動溝) と、が形成されている。第 1 泳動溝 b2) は、試料延伸溝 b1) と一部の溝を共有する。また、第 1 泳動溝 b2) の一端には、キャピラリの一端と接続するための接続口 (第 1 接続口) が設けられている。検出チップ c) も 2 枚の平板が張り合わされて成り、両平板の間に泳動溝 (第 2 泳動溝)

が形成されている。そしてこの第2泳動溝には、検出部と、一端にキャピラリの他端と接続するための接続口（第2接続口）とが設けられている。

【0010】

【作用】キャピラリ電気泳動分析を行なう場合、キャピラリの一端を試料注入チップの第1接続口に接続し、他端を検出チップの第2接続口に接続する。試料注入の際は、まず試料注入チップの試料延伸溝の一端に試料を注入し、電気泳動又は差圧（押圧）により試料を試料延伸溝全体に拡散させる。次に、試料注入チップの泳動溝（第1泳動溝）と検出チップの泳動溝（第2泳動溝）との間に泳動電圧を印加する。

これにより、試料延伸溝と第1泳動溝との共通部分にある試料が第1泳動溝→キャピラリ→第2泳動溝と泳動してゆき、その間に成分の分離が行なわれる。分離された成分は、第2泳動溝の検出部において検出される。

【0011】

【発明の効果】本発明に係るキャピラリ電気泳動装置の試料注入チップにおいては、試料延伸溝と泳動溝との共通部分に存在する試料のみが泳動し、しかもその共通部分の体積は正確に知ることができるために、正確な定量分析を行なうことができる。

【0012】検出チップにおいては、チップ内に自在な形状の検出部を形成しておくことができるため、例えば吸光検出を行なう場合には泳動溝にZ字型部分を形成して光路長を大きくするといったことが可能となり、濃度感度を向上させることができる。

【0013】本発明に係るキャピラリ電気泳動装置では、試料注入部分と検出部分とがそれぞれチップ化されているため、取り扱いが簡単である。また、チップは近年のマイクロマシーニング技術により正確な寸法のものを製造することができるため、ばらつきの少ない再現性の良い分析を行なうことができる。

【0014】

【実施例】本発明の一実施例であるキャピラリ電気泳動装置を図1～図4により説明する。図1(a)に示される通り、実施例のキャピラリ電気泳動装置は、キャピラリ11を収納したカートリッジ12と、キャピラリの両端に接続する試料注入チップ13及び検出チップ14から構成される。カートリッジ12は本体12aと、本体12aに対して開閉可能な蓋12bとからなり、本体12aには、キャピラリ11を巻いて収納するキャピラリ収納溝12cが設けられている。キャピラリ収納溝12cの部分の本体12a及び蓋12bには、それらを貫通する通気穴12dが多数設けられ、泳動時の発熱をファン15により放散できるようになっている(図1(b))。なお、カートリッジ12には、使用するキャピラリ11や泳動液等を識別するためのバーコード等を付しておいてよい。

【0015】キャピラリ11をカートリッジ12に収納

する際は、キャピラリ11の両端がカートリッジ12の両側面から少し突出するようにしておき、その部分に、試料注入チップ13及び検出チップ14を接続する。なお、試料注入チップ13及び検出チップ14をカートリッジ12に固定するための係合具をカートリッジ12又は各チップ13、14に設けておいてよい。

【0016】試料注入チップ13及び検出チップ14は、共に、2枚のガラス板が張り合わせて構成され、取り扱いの便のため、全体の大きさは1辺2～5cm程度の矩形となっている。なお、後述の溝等のエッティング工程を容易にするためにシリコン等の半導体材料を用いることもできるが、この場合は溝の表面に熱酸化膜等の絶縁膜を形成しておく必要がある。図2に示すように、試料注入チップ13は2枚のガラス板21、22の張り合わせにより構成され、いずれか一方のガラス板21の表面にはエッティング等のマイクロマシーニングにより、一部に共通部分23を有する試料延伸溝24と泳動溝25とが設けられている。これらの溝の断面積は使用するキャピラリ11の断面積と同程度(例えば100～700μm²程度)となっている。なお、もちろん他方のガラス板22の張り合わせ面に同一パターンの溝24、25を形成してもよい。また、両ガラス板21、22は、後述の溝、孔、電極等の加工が施された後、熱接合又は陽極接合により張り合わせ固定される。

【0017】泳動溝25の一方の端部にはキャピラリ11を受け入れるための接続口26が設けられ、他方の端部には下側のガラス板21を貫通して下側に開口する泳動液吸入口27が設けられている。また、試料延伸溝24の両端部には貯留部(リザーバ)28、29が設けられている。これら貯留部28、29は、下部となるガラス板21に形成された試料延伸溝24の端に対応する位置に、上部となるガラス板22を貫通する孔として形成される。これら泳動液吸入口27及び貯留部28、29には、そこに存在する泳動液に電圧を印加するための電極30、31、32がそれぞれ設けられている。電極30、31、32は、一方のガラス板21の表面にフォトリソグラフィにより形成された導電性薄膜からなり、連続してガラス板21の端面に至るように形成されている(図2(b)参照)。

【0018】図3に示すように、検出チップ14には泳動溝35が上記試料注入チップ13の場合と同様の方法で形成され、その一端にはキャピラリ接続口36が、他端には排液口38が設けられている。また、排液口38には泳動電圧印加のための電極39が設けられている。泳動溝35は途中で屈曲し、やや長い直線状の検出部37が設けられている。検出チップ14を構成する両ガラス板の検出部37の両端部分には、発光側ファイバ40及び受光側ファイバ41を挿入するための孔が設けられている。

【0019】以上の構成を有する本実施例のキャピラリ

電気泳動装置の使用方法は次の通りである。カートリッジ12の両側面から突出するキャピラリ11の両端に試料注入チップ13及び検出チップ14のキャピラリ接続口26、36を合わせて差し込み、両チップ13、14をカートリッジ12に固定する。なおこのとき、キャピラリ接続口26、36の周辺をシール材でシールすることが望ましい。次に、泳動液吸入口27に泳動液注入管33を差し込み、その先端を泳動液槽34に浸漬させる。この状態で泳動液槽34の液面に圧力を加えることにより、泳動液を各溝24、25、35及びキャピラリ11内に満たす。次に、泳動液吸入口27、貯留部28、29及び排液口38に対応する電極30、31、32、39に導線を接続し、図4に示すような回路を構成する。

【0020】最初に試料を貯留部28に少量注入し、スイッチS2及びS3を閉成することにより試料を貯留部28から貯留部29に泳動させ、試料を試料延伸溝24内に延伸させる。次にスイッチS2及びS3を開放し、スイッチS1とS4を閉成する。これにより、泳動溝25-キャピラリ11-泳動溝35の両端に高圧源(HV)46からの泳動電圧が印加され、試料延伸溝24と泳動溝25との共通部分23に存在する試料のみが泳動溝25からキャピラリ11へ泳動してゆき、キャピラリ11において成分分離される。

【0021】キャピラリ11で分離された成分は検出チップ14の泳動溝35に入り、その検出部37でUV吸収、蛍光検出等による検出が行なわれる。本実施例の検出チップ14の検出部37では、図3に示すように光路長が十分長く確保されているため、感度の高い検出を行なうことができる。

【0022】分析終了後は、泳動液槽34の液面を加圧することにより試料延伸溝24、泳動溝25、35及びキャピラリを洗浄することができる。また、電極31→電極30及び電極31→電極32間に電圧を印加することにより、電気泳動によって洗浄することもできる。

【0023】試料注入チップ13の他の一例を図5に示す。この例では、試料延伸時に電極T1とT2の間に電圧を印加した場合には短い方の共通部分53aに試料が入り、電極T1とT3の間に電圧を印加した場合には長い方の共通部分53bに試料が入る。その後、電極T4と検出チップの電極39の間に泳動電圧を印加することにより、2種類の量で試料の泳動分析を行なうことができる。

【0024】また、検出チップ14においても、図4に示したように検出部37を長くすること以外にも、例えば泳動溝35の上下に多重反射面を形成し、分析光を多重反射させることにより濃度感度を上げることもできる。

【0025】以上説明した通り、本実施例のキャピラリ*

*電気泳動分析装置では、分析が行なわれる試料は共通部分23、53a、53bに存在するものだけであり、この共通部分23、53a、53bの容積は正確に知ることが可能である(実測してもよいが、マイクロマシニングの加工精度が高い場合には、設計容積をそのまま用いることができる)ため、精度の高い分析を行なうことができる。また、検出チップ14においては、検出部37を各種形状に設定することができるため、高い濃度感度で検出を行なうことができる。更に、従来のようにキャピラリ自体を検出セルにする方法では検出部に対するキャピラリの位置合わせが煩わしかったが、本実施例の装置では定型の検出チップを所定位置に置いておけば、検出部を最適な状態に保持したまま、キャピラリカートリッジのみを交換して分析条件を自由に変更することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】 本発明の一実施例であるキャピラリ電気泳動装置の平面図(a)及び側面図(b)。

【図2】 実施例の試料注入チップの平面図(a)及び断面図(b)。

【図3】 検出チップの平面図。

【図4】 電気回路の構成図。

【図5】 他の試料注入チップの平面図。

【図6】 従来のキャピラリにおける試料注入時の問題を説明する断面図。

【符号の説明】

1 1 …キャピラリ

1 2 …キャピラリ用カートリッジ

1 2 a …本体 1 2 b …蓋

30 1 2 c …キャピラリ収納溝 1 2 d …通気穴

1 3 …試料注入チップ

1 4 …検出チップ

1 5 …ファン

2 1、2 2 …ガラス板

2 3 …共通部分

2 4 …試料延伸溝

2 5、3 5 …泳動溝

2 6、3 6 …キャピラリ接続口

2 7 …泳動液吸入口

40 2 8、2 9 …貯留部

3 0、3 1、3 2、3 9 …電極

3 3 …泳動液注入管

3 4 …泳動液槽

3 7 …検出部

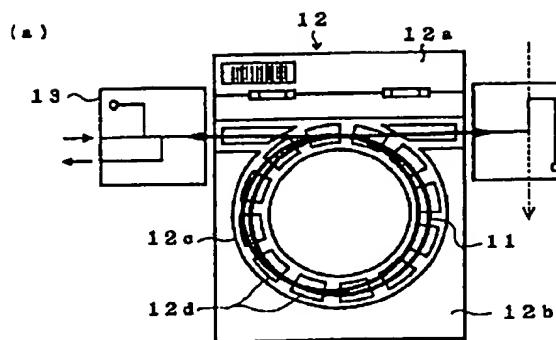
3 8 …排液口

4 0 …発光側ファイバ

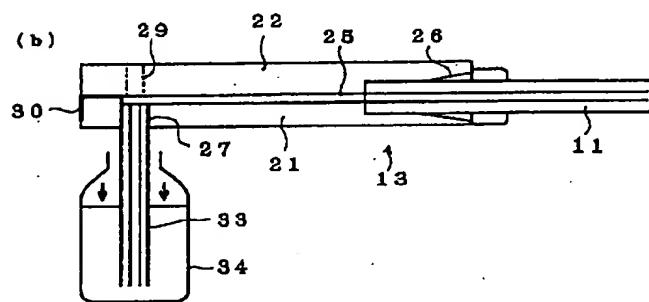
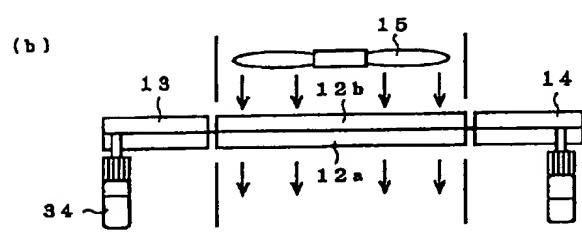
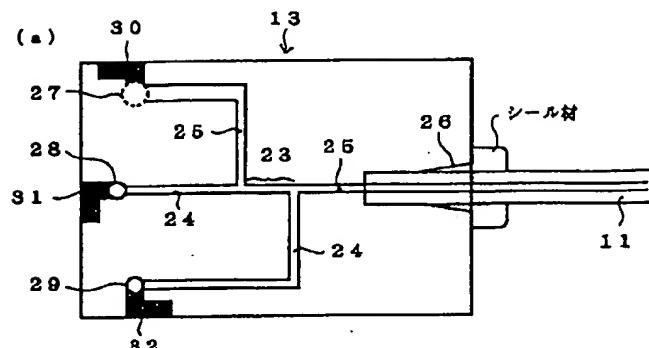
4 1 …受光側ファイバ

5 3 a、5 3 b …共通溝

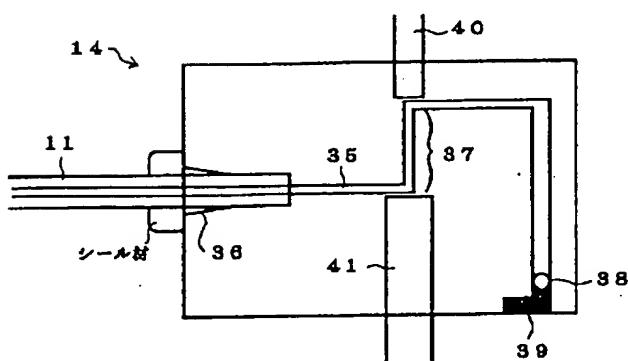
【図1】



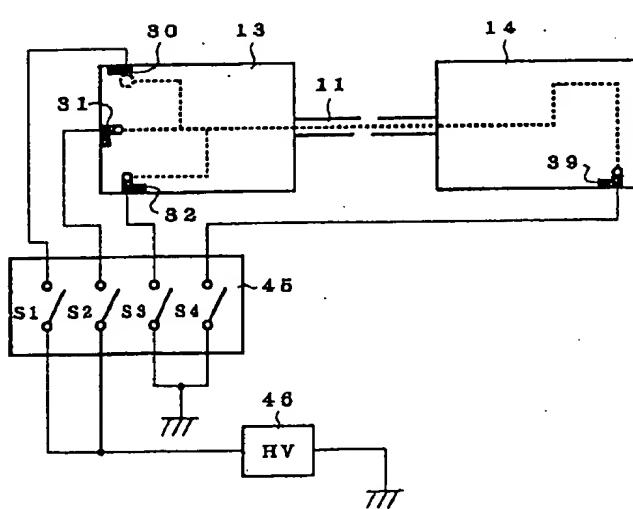
【図2】



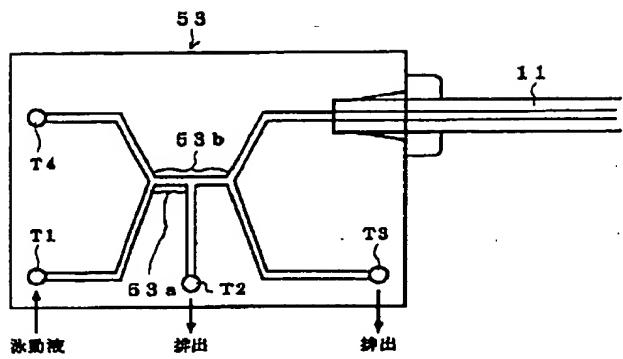
【図3】



【図4】



【図5】



【図6】

